

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

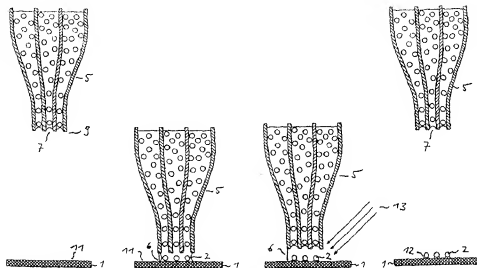
(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : G01N 1/31 // B01J 19/00		(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/60373
A1		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. November 1999 (25.11.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/03476		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(22) Internationales Anmeldedatum: 20. Mai 1999 (20.05.99)		
(30) Prioritätsdaten: 198 23 660.3 20. Mai 1998 (20.05.98) DE		
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): NANOMONT GESELLSCHAFT FÜR NANOTECHNOLOGIE MBH [-/DE]; Im Biotechnologepark, Technologie- und Gründerzentrum, D-14943 Luckenwalde (DE).		
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): JENTSCH, Winfried [DE/DE]; Weißenseer Weg 8, D-10367 Berlin (DE). SCHMUCKER, Ulrich [DE/DE]; Gartenweg 20, D-39167 Irxleben (DE). ZUBTISOV, Mikhail [DE/DE]; Louis-Pasteur-Strasse 11, D-14943 Luckenwalde (DE).		
(74) Anwälte: GULDE, Klaus, W. usw.; Lützowplatz 11-13, D-10785 Berlin (DE).		Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist: Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR FIXING MICRO- AND/OR NANO OBJECTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR FIXIERUNG VON MIKRO- UND/ODER NANOOBJEKTEN

(57) Abstract

The invention relates to a method suitable for mass production and a device for fixing micro- and/or nano-objects. The invention is characterized in that several liquid phases containing solid micro- and/or nano-objects (2) are filled into the wide filling holes (8) of conically narrowing tubes (4) and transported in the direction of a narrow outlet opening (7) of said tubes (4); the shape and size of the narrow outlet openings (7) prevent the passage of more than one object (2); the narrow outlet openings (7) of the tubes (4) are positioned three-dimensionally (in directions x, y and z) in relation to a support plane (11) before the objects (2) emerge; and the micro- and/or nano-objects (2) having passed through the outlet opening (7) are physically and/or chemically and/or mechanically fixed on the support (1) in the defined position.



(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein für die Massenfertigung geeignetes Verfahren und eine Vorrichtung zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten. Die Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, feste Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) enthaltende flüssige Phasen in je eine weite Einfüllöffnung (8) sich konusartig verengender Röhre (4) eingefüllt und in Richtung je einer engen Austrittsöffnung (7) der Röhre (4) befördert werden, wobei die engen Austrittsöffnungen (7) durch ihre Form und Größe eine Durchlässigkeit von mehr als einem Objekt (2) verhindern, daß die engen Austrittsöffnungen (7) der Röhre (4) vor dem Austreten der Objekte (2) relativ zu einer Trägerebene (11) dreidimensional (in x-, y- und z-Richtung) positioniert werden und daß die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) nach dem Austreten aus der Austrittsöffnung (7) in der vorgegebenen Position physikalisch und/oder chemisch und/oder mechanisch auf den Träger (1) fixiert werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL Albanien	ES Spanien	LS Lesotho	SI Slowenien
AM Armenien	FI Finnland	LT Litauen	SK Slowakei
AT Österreich	FR Frankreich	LU Luxemburg	SN Senegal
AU Australien	GA Gabun	LV Lettland	SZ Swasiland
AZ Aserbaidschan	GB Vereinigtes Königreich	MC Monaco	TD Tschad
BA Bosnien-Herzegowina	GE Georgien	MD Republik Moldau	TG Togo
BB Barbados	GH Ghana	MG Madagaskar	TJ Tadschikistan
BE Belgien	GN Guinea	MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM Turkmenistan
BF Burkina Faso	GR Griechenland	ML Mali	TR Türkei
BG Bulgarien	HU Ungarn	MN Mongolei	TT Trinidad und Tobago
BJ Benin	IE Irland	MR Mauretanien	UA Ukraine
BR Brasilien	IL Israel	NE Niger	UG Uganda
BY Belarus	IS Island	NL Niederlande	US Vereinigte Staaten von Amerika
CA Kanada	IT Italien	NO Norwegen	UZ Usbekistan
CF Zentralafrikanische Republik	JP Japan	NZ Neuseeland	VN Vietnam
CG Kongo	KE Kenia	PL Polen	YU Jugoslawien
CH Schweiz	KG Kirgisistan	PT Portugal	ZW Zimbabwe
CI Côte d'Ivoire	KP Demokratische Volksrepublik Korea	RO Rumänien	
CM Kamerun	KR Republik Korea	RU Russische Föderation	
CN China	KZ Kasachstan	SD Sudan	
CU Kuba	LC St. Lucia	SE Schweden	
CZ Tschechische Republik	LI Liechtenstein	SG Singapur	
DE Deutschland	LK Sri Lanka		
DK Dänemark	LR Liberia		
EE Estland			

5

10

**Verfahren und Vorrichtung zur Fixierung von Mikro-
und/oder Nanoobjekten**

15

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten mit den Merkmalen der im Oberbegriff der Patentansprüche 1 und 15 genannten Gattung.

Für die Durchführung komplexer biochemischer Analysen, wie z.B. DNA-, Virus- oder Genanalysen ist die Untersuchung und Auswertung einer großen Anzahl von Einzelreaktionen erforderlich. Stand der Technik ist die parallele Durchführung von einigen 10...100 Analysen in sog. Mikrotiterplatten. Dabei wird die zu untersuchende Substanz in Platten mit regelmäßig angeordneten Vertiefungen mit verschiedensten Analysesubstanzen zur Reaktion gebracht. Das Einbringen der Probe- und Analysesubstanzen kann vollautomatisch mit sog. Pipettierrobotern erfolgen, wobei Stoffmengen von einigen 10...100 Mikrolitern verwendet werden. Dieses Verfahren und die anschließenden umfangreichen Bearbeitungsschritte zur Auslösung und Auswertung der gewünschten chemischen Reaktionen erfordern einen sehr hohen apparativen und zeitlichen Aufwand, so daß derartige Untersuchungen nur in speziellen Labors durchgeführt werden.

5 Nach einem Verfahren gemäß dem US-Patent 5.445.934 erfolgt eine Miniaturisierung und Parallelisierung der Untersuchungen dadurch, daß auf einem Trägerchip durch Verwendung der vier Nukleotid-Grundbausteine und der aus der Halbleitertechnik bekannten
10 Maskentechnologien beliebige Nukleotidketten (Oligonukleotide) synthetisiert werden. Auf diese Weise können auf einem Chip einige Millionen verschiedene Oligonukleotide erzeugt und nach Reaktion mit der Probesubstanz mittels bekannter Verfahren (z.B.
15 Fluoreszenzanalyse) ausgewertet werden. Dem Vorteil der hohen Parallelität steht eine sehr geringe Flexibilität gegenüber, da für jede neu zu detektierende Substanz (z.B. Gen oder Genabschnitt) ein neuer Maskensatz mit entsprechend hohen Kosten gefertigt
20 werden muß.

Ein weiteres, bekanntes Verfahren der biochemischen Analytik verwendet Kugeln aus Glas, Metall oder
Kunststoff mit einem Durchmesser von einigen
25 Mikrometern bis einigen hundert Mikrometern als Träger für Analysesubstanzen. Damit lassen sich z.B. Oligonukleotide direkt oder durch sog. Linker an die Kugeln anlagern. Dieses Verfahren wird insbesondere für in-vivo-Analysen eingesetzt, indem diese Kugeln
30 in einer wäßrigen Lösung direkt in Zellen, Gefäße etc. eingespritzt werden.

In der EP 0 040 943 B1 werden in einem Träger Löcher eingebracht, in die käfigartige Aufnahmevorrichtungen
35 aus Draht o.ä. eingehängt werden. Mehrere Kugeln werden dann in einer nicht näher beschriebenen Weise in diese Käfige positioniert und fixiert.

5 Die Herstellung derartiger Strukturen dürfte extrem aufwendig sein. Eine Realisierung ist nicht bekannt. Der Miniaturisierbarkeit sind hier Grenzen gesetzt. Außerdem würde so ein Gebilde mechanisch sehr instabil sein und damit für einen praktischen Einsatz
10 kaum zu gebrauchen sein. Die Positionierung und Fixierung der Kugeln ist nicht gelöst.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfaches, preiswertes und für eine Massenfertigung
15 geeignetes Verfahren einschließlich einer dazugehörigen Vorrichtung zu schaffen, die eine exakte und reproduzierbare Positionierung und Fixierung einer großen Anzahl von biochemisch aktivierten als Formkörper ausgebildete Mikro- und/oder Nanoobjekte,
20 wie Mikrokugeln sowie Makromoleküle auf einem gemeinsamen Träger erlauben.

Die erfindungsmäßige Lösung zeichnet sich dadurch aus, daß die Anzahl der Formkörper und damit der zu
25 untersuchenden Substanzen sehr einfach den Erfordernissen der durchzuführenden Analyse angepaßt werden kann. Das bedeutet, daß vorteilhafterweise von einigen wenigen bis einigen zehntausend Substanzen bestimmbar sind. Weiterhin läßt sich die Anordnung
30 der Formkörperbeschichtungen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung als auch die Platzierung auf einem Träger sehr einfach den Erfordernissen anpassen. Insbesondere können auch Formkörper mit gleicher Beschichtung mehrfach auf einem Träger
35 vorhanden sein. Durch diese Redundanz läßt sich eine Erhöhung der Auswertesicherheit erreichen. Damit wird das Analyseverfahren äußerst flexibel und sehr gut miniaturisierbar (z.B. einige zehntausend Kugeln auf einem Quadratzentimeter). Weiterhin besteht die Be-

5 schichtung einer Kugel aus Bruchteilen eines
Pikoliters der Analysesubstanz. Damit wird der
Verbrauch an teilweise sehr teuren Analysesubstanzen
gegenüber dem Mikrotiterv erfahren um mehrere
Größenordnungen gesenkt.

10

Als Formkörper können erfindungsgemäß an sich
bekannte kugelförmige Objekte sowie Makromoleküle
eingesetzt werden, die mit einer bestimmten Analyse-
substanz beschichtet sind und die in einer wäßrigen,
15 gepufferten Lösung dispergiert sind. Sie werden in
ein Kapillarrohr - vorzugsweise aus Glas - gegeben,
das am oberen Ende eine Einfüllöffnung mit einem
Innendurchmesser besitzt, der ein Befüllen mit her-
kömmlichen Pipetten oder Pipettierrobotern ermög-
20 licht. Das Kapillarrohr verjüngt sich nach unten zu
einer Austrittsöffnung, so daß sie im letzten
Abschnitt auf eine bestimmte Länge einen Innen-
durchmesser besitzt, der größer als der Kugeldurch-
messer, aber kleiner als der zweifache Kugeldurch-
25 messer ist. Bei genügend kleinem Kapillardurchmesser
verhindern die Kapillar- und Adhäsionskräfte ein
Austreten der Flüssigkeit und damit der Kugeln aus
der Austrittsöffnung. Durch Einwirkung einer Kraft
auf die flüssige Phase im Kapillarrohr - z.B. durch
30 Anlegen einer Druckdifferenz zwischen oberer
Kapillareinfüllöffnung und unterer Kapillaraustritts-
öffnung (entweder Überdruck oben oder Unterdruck
unten), durch elektrostatische, magnetische oder
andere physikalische Kraftwirkungen - erfolgt ein
35 Austreten der flüssigen Phase, die die Formkörper
dispergiert enthält, am unteren Ende des
Kapillarrohres.

5 Erfindungsgemäß werden mehrere solcher Kapillarrohre, gefüllt mit Formkörpern unterschiedlicher Beschichtung und Beschaffenheit, regelmäßig zu einem Positionierkopf angeordnet, vorzugsweise hexagonal oder in einem rechtwinkligen Raster, so daß mindestens die Austrittsöffnungen und auch die Einfüllöffnungen sich in einer Ebene senkrecht zur Kapillarachse befinden. Diese Ebene wird im weiteren als Austrittsebene bezeichnet.

10 Ordnet man nunmehr einen Träger parallel unterhalb der Austrittsebene in einem Abstand an, der kleiner als der Formkörperdurchmesser ist und stellt die erwähnte Druckdifferenz her, so wird aus allen Kapillaren sowohl die flüssige Phase austreten als auch aus jeder Kapillare genau eine Kugel, wenn der 20 Formkörper eine Kugel ist, auf dem Träger aufsetzen. Der Träger kann hierbei eben oder strukturiert sein.

Bevor Positionierkopf und Träger nach Beendigung des Positionierungsvorganges wieder voneinander entfernt 25 werden, müssen die ausgetretenen Kugeln am Träger fixiert werden, da andernfalls beim Abreißen des Flüssigkeitsfilms dessen Oberflächenspannung die Kugeln wieder zurück in die Kapillaren ziehen würde.

30 Die Fixierung der ausgetretenen und aufgesetzten Kugeln kann auf verschiedene Weise erfolgen. Beispielsweise ist die Verwendung von Kugeln mit magnetischem Kern und das Anlegen eines Magnetfelds sowie die Verwendung einer elektrostatischen Ladung 35 möglich. Vorteilhaft ist es, sofort eine dauerhafte Fixierung herzustellen. Das erfolgt erfindungsgemäß so, daß der Träger vor der Positionierung der Kugeln mit einer geeigneten Substanz beschichtet wird oder der Träger unmittelbar aus dieser Substanz besteht,

5 die eine chemische Bindung mit den Kugeln, ihrer Beschichtung oder Teilen davon eingeht. Beispielsweise kann als Beschichtung ein photopolymerisierbares Vorpolymer oder ein Crosslinker verwendet werden, die die Fixierung der Formkörper unter dem
10 Einfluß von UV-Licht ermöglicht.

Die ausgetretene Flüssigkeit kann nach verschiedenen an sich bekannten Verfahren, wie Verdunsten, über Drainageelemente im Träger oder auch durch Verwendung
15 zusätzlicher Hilfskapillaren zum Absaugen der Flüssigkeit, entfernt werden. Ein Teil der Flüssigkeit tritt wegen der Oberflächenspannung beim Entfernen des Positionierkopfs spontan in die Kapillare zurück. Diesen Effekt kann man dadurch
20 verstärken, indem man die Materialpaarung Pufferflüssigkeit - Trägerbeschichtung so wählt, daß im wesentlichen keine Benetzung erfolgt.

Nach der Fixierung werden Positionierkopf und Träger
25 über geeignete Stellantriebe voneinander entfernt. Danach kann der nächste Positioniervorgang erfolgen.

Bei der Bewegung der Kugeln in den Kapillaren kann es vorkommen, daß diese sich aufgrund von Koagulations-
30 und/oder Adhäsionserscheinungen zu Clustern formieren (agglutinieren), was den Positioniervorgang unmöglich machen würde.

Erfindungsgemäß wird dieses Problem gelöst, indem die Kugeln gleichsinnig elektrostatisch aufgeladen werden
35 - entweder durch Anlegen eines äußeren elektrischen Feldes oder vorzugsweise durch Modifizierung der Beschichtung mit polaren Gruppen gleicher Polarität. In diesem Falle kann der Prozeß des "Herausdrückens" der Kugel aus der Austrittsöffnung sehr effektiv

5 dadurch unterstützt werden, daß auf den Träger
zeitweilig eine Ladung entgegengesetzter Polarität
aufgebracht wird.

10 Nach Abschluß des Positionier- und Fixiervorgangs
werden die Kugeln mit einem geeigneten Gel bedeckt,
um ein völliges Austrocknen zu vermeiden, was zu
einer biochemischen Degradation der Analysesubstanzen
führen würde. Anschließend erfolgt ein Abdecken mit
einer mechanischen Schutzschicht, z.B. einer Folie.
15 Damit ist die Herstellung des Analysechips abge-
schlossen.

Die Erfindung wird beispielhaft an Hand von
Zeichnungen näher erläutert.

20

Es zeigen

Fig.1 eine schematische stufenförmige Darstellung
eines Positionier- und Fixierungsvorganges,

25

Fig.2 eine Draufsicht der Austrittsebene,

Fig.3 ein Blockschaltbild der Vorrichtung

30

und

Fig.4 eine Ansicht der beladenen Trägerebene.

35

In Fig.1 ist in vier Stufen das erfindungsgemäße
Verfahren schematisch dargestellt.

Hier werden Formkörper 2 in Form von Polystyrolkugeln
von 10 Mikrometern Durchmesser und Kapillarrohre 4
aus Glas mit einem Innendurchmesser einer Aus-

trittsöffnung 7 von 16 Mikrometern eingesetzt. Nach
oben erweitern sich die Kapillarrohre 4 auf einen
Durchmesser einer Einfüllöffnung 8 von 5 mm.

Jeweils 19 Kapillarrohre 4 sind hexagonal mittels
eines Bindemittels 20 zu einer Positionierzelle 3
zusammengefaßt. Die Kaskadierung mehrerer Positio-
nierzellen 3, wiederum in hexagonaler Anordnung,
ergibt einen Positionierkopf 5.

In einer Austrittsebene 9 befinden sich Ab-
standshalter 6 mit einer Länge von 12 Mikrometern,
jeweils zwischen den Kapillarrohren 4 angeordnet, zur
Abstandshaltung zwischen der Austrittsebene 9 des
Positionierkopfes 5 und einer Trägerebene 11 eines
Trägers 1. Der Positionierkopf 5 ist über einen
Stellantrieb 15 in senkrechter Richtung bewegbar.
Stellantriebe 16 und 17 dienen der Bewegung des
Positionierkopfes 5 in x- bzw. y-Richtung (Fig.3).
Der Positionierkopf 5 ist in den drei Achsen
elastisch aufgehängt (in Richtung der z-Achse sowie
drehbar um die x- und y-Achse). Durch die Elastizität
in z-Richtung kann der Positionierkopf 5 zerstörungs-
frei direkt auf den Träger 1 aufgesetzt werden, wobei
die Abstandshalter 6 den gewünschten Abstand zwischen
Trägerebene 11 und Austrittsebene 9 garantieren. Die
elastische Lagerung um die x- und y-Achse führt zum
automatischen Ausgleich von Winkelfehlern zwischen
Austritts- und Trägerebene 9 und 11.

Als Träger 1 wird ein Plättchen von ca. 1 cm² aus
glasklarem Polystyrol verwendet, das auf der Träger-
ebene 11 mit einer wenige Nanometer dicken Foto-
polymerschicht 12 versehen ist. In Fig.1 ist der
Träger 1 ohne Vertiefungen dargestellt. Damit ent-
fällt die Notwendigkeit einer Positionierung in x-

5 und y-Richtung im Mikrometerbereich. Einige 10...100
Mikrometer Positioniergenauigkeit sind ausreichend.

Nach Positionierung des Trägers 1 mittels
zusätzlicher Stellantriebe 18 und 19 unter dem
10 Positionierkopf 5 erfolgt dessen Abwärtsbewegung bis
zum Aufsetzen der Abstandshalter 6 auf den Träger 1.
Auf die zuvor mit der flüssigen Phase befüllten
Kapillarrohre 4, die zusätzlich mit Ultraschall
behandelt werden können, wird nun einfüllseitig ein
15 geringer Überdruck aufgebracht, der zum Austreten und
Aufsetzen der hier als Kugeln ausgebildeten Form-
körper 2 auf der Trägerebene 11 führt. Die Ultra-
schallbehandlung dient u.a. der Vereinzelung der
Kugeln.

20 Eine auf den Träger 1 gerichtete UV-Lampe 13 (Fig.1)
wird nunmehr kurzzeitig eingeschaltet. Die durch das
UV-Licht induzierte Polymerisation fixiert die Kugeln 2
dauerhaft am Träger 1 (Fig.4). Anschließend wird der
25 Positionierkopf 5 mittels des Stellantriebes 15 wieder
angehoben. Als UV-Lampe 13 wird eine Ringleuchte
verwendet, die um eine Kamera mit Mikroskopobjektiv
angeordnet ist. Koppelt man zusätzlich Weißlicht
seitlich in den Träger 1 ein, lassen sich die Aufsetz-
30 vorgänge von Abstandshaltern 6 und Kugeln 2 von unten
beobachten und mittels bekannter Methoden der
industriellen Bildverarbeitung zur Prozeßsteuerung
nutzen. Eine Regelungseinrichtung 14 regelt und steuert
die Stellantriebe 15, 16, 17, 18 und 19, die für die
35 Bewegung des Positionierkopfes 5 und des Trägers 1
zuständig sind. Die dafür erforderlichen Daten werden
durch Sensoren 10 ermittelt und der Regelung-
einrichtung 14 zugeführt.

5

Bezugszeichenliste

10	1	Träger	40	16	Stellantrieb
	2	Formkörper, Kugel		17	Stellantrieb
	3	Positionierzelle		18	Verstellantrieb
15		45			
	4	Kapillarrohr		19	Verstellantrieb
	5	Positionierkopf		20	Bindemittel
20	6	Abstandshalter	50		
	7	Austrittsöffnung			
	8	Einfüllöffnung			
25		55			
	9	Austrittsebene			
	10	Sensoren			
30	11	Trägerebene	60		
	12	Photopolymerschicht			
	13	UV-Lampe			
35		65			
	14	Regelungseinrichtung			
	15	Stellantrieb			

Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten, die in einer flüssigen Phase enthalten sind, auf einem Träger, dadurch gekennzeichnet, daß
- 10 mehrere Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) enthaltende flüssige Phasen in je eine weite Einfüllöffnung (8) sich konusartig verengende Rohre (4) eingefüllt und in Richtung je einer engen Austrittsöffnung (7) der Rohre (4) befördert werden, wobei die engen Austrittsöffnungen (7)
- 15 durch ihre Form und Größe eine Durchlässigkeit von mehr als einem Objekt (2) verhindert, daß die engen Austrittsöffnungen (7) der Rohre (4) vor dem Austreten der Objekte (2) relativ zu einer Trägerebene (11) dreidimensional (in x-, y- und z-
- 20 Richtung) positioniert werden und daß die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) nach dem Austreten aus der Austrittsöffnung (7) in der vorgegebenen Position physikalisch und/oder chemisch und/oder mechanisch auf den Träger (1) fixiert werden.
- 25 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß
- 30 die Beförderung der flüssigen Phase einschließlich der festen Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) durch die Rohre (4) mittels einer angelegten Druckdifferenz zwischen der weiten Einfüllöffnung (8) und der engen Austrittsöffnung (7) erfolgt.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, daß
sowohl Austritt als auch Positionierung und
Befestigung der Mikro- und/oder Nanoobjekte im
wesentlichen gleichzeitig erfolgt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet, daß
eine vorhergehende reaktive Beschichtung der
Trägerebene (11) erfolgt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte (2)
elektrostatisch und/oder photochemisch erfolgt.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte mit
mechanischen Mitteln erfolgt.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte nach
deren vorhergehender Magnetisierung durch magne-
tische Kräfte erfolgt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
nach erfolgter Fixierung der Mikro- und/oder
Nanoobjekte (2) auf die Träger (1) eine Be-
schichtung mit einem Gel erfolgt.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Verhinderung einer Koagulation der Mikro-
und/oder Nanoobjekte (2) in der flüssigen Phase
5 die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) gleichsinnig
elektrostatisch und die Trägerebene (11)
gegenseitig elektrostatisch aufgeladen werden.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet, daß
10 die in einem Rohr (4) befindlichen Mikro- und/oder
Nanoobjekte (2) mit biologisch-chemisch aktiven
Substanzen einer Art in unterschiedlichen Rohren
(4) die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) mit min-
15 destens teilweise unterschiedlichen Substanzen
beschichtet sind.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, daß
20 die gleichzeitige Anordnung verschiedener biolo-
gisch-chemischer Substanzen zur Detektion von
Nukleotidsequenzen genutzt wird.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
25 zur Detektion von Nukleotidsequenzen eine
Probenflüssigkeit auf den mit den Mikro- und/oder
Nanoobjekten (2) versehenen Träger (1) gebracht
und über bekannte chemische Reaktionen eine
30 makroskopische oder mikroskopisch beobachtbare
Veränderung der Eigenschaften der Objektober-
flächen insbesondere farbliche Veränderungen oder
Veränderungen der Fluoreszenzeigenschaften nachge-
wiesen werden.

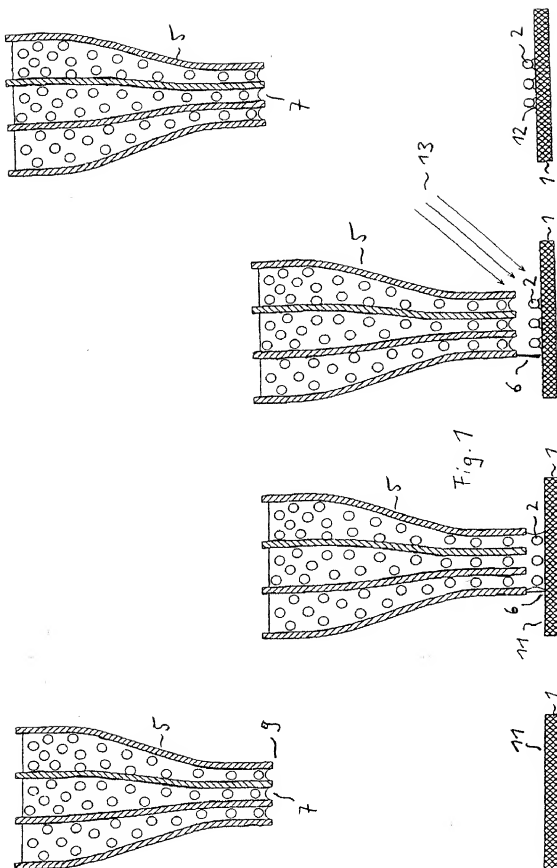
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Verhinderung von Koagulation und Adhäsion der
Mikro- und/oder Nanoobjekte in der flüssigen Phase
5 Stabilisierungsmittel, wie Tenside, eingesetzt
werden.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch gekennzeichnet, daß
10 als Rohre (4) Kapillaren eingesetzt werden.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, daß
als Mikro- und/oder Nanoobjekte Formkörper und/
15 oder Makromoleküle eingesetzt werden.
16. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß
der Ansprüche 1 bis 15
bestehend aus einem dreidimensional verschiebbaren
20 Positionierkopf (5), der eine bündelartige Anord-
nung von konusartig sich verengenden Rohren (4)
aufweist, die je eine weite Einfüllöffnung (8) und
eine enge Austrittsöffnung (7) besitzen,
aus einem Träger (1) mit einer Trägerebene (11),
25 die parallel zu einer Austrittsebene (9) der Rohre
(4) angeordnet ist und
Stellantrieben (15, 16, 17) zur Positionierung der
Austrittsöffnungen (7) oberhalb der Trägerebene
(11) und Stellantrieben (18,19) zur Positionierung
30 des Trägers (1).
17. Vorrichtung nach Anspruch 16,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Positionierkopf (5) aus mehreren Positio-
nierzellen (3) besteht.
35

18. Vorrichtung nach Anspruch 16 oder 17,
dadurch gekennzeichnet, daß
an der Austrittsebene (9) Abstandshalter (6) ange-
ordnet sind.

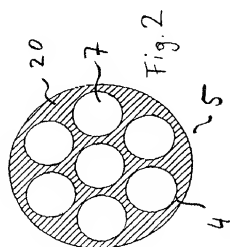
5

19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 16 bis 18,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Rohre (4) Kapillaren sind.

1/4



2/4



3/4

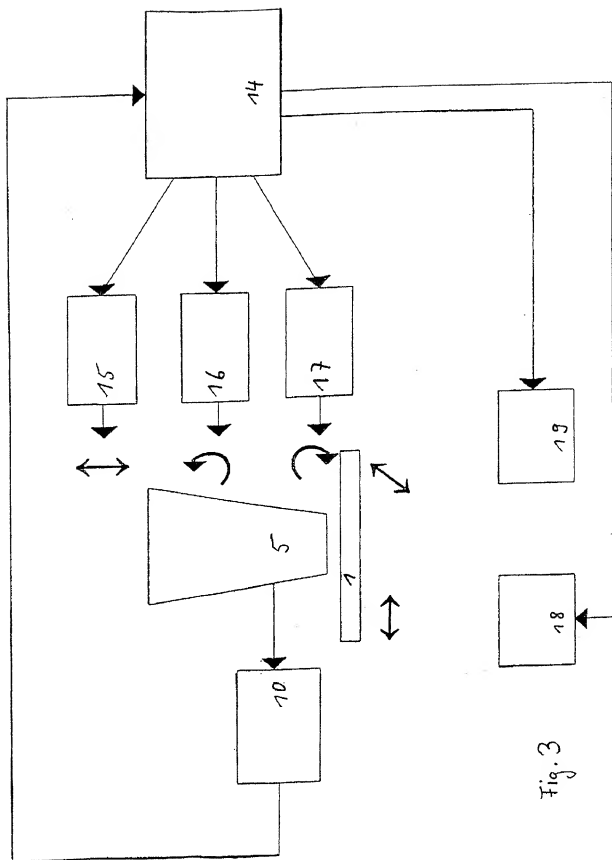


Fig. 3

4/4

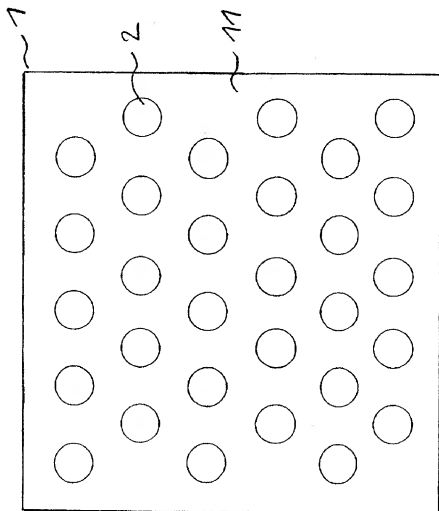


Fig. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC1/EP 99/03476

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N1/31 //B01J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N B01J B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	<p>WO 98 29736 A (GENOMETRIX INC) 9 July 1998 (1998-07-09) page 1, line 19 -page 1, line 22 page 7, line 4 -page 7, line 9 page 7, line 20 -page 7, line 23 page 10, line 17 -page 10, line 21 page 11, line 6 -page 11, line 16 page 15, line 5 -page 15, line 14 page 15, line 21 -page 16, line 8 page 17, line 26 -page 18, line 8 page 19, line 18 -page 19, line 26 page 21, line 6 -page 21, line 27 page 22, line 12 -page 23, line 18 page 25, line 24 -page 26, line 12 page 28, line 12 -page 29, line 23 page 31, line 4 -page 31, line 6 page 45, line 9 -page 46, line 17 page 54, line 7 -page 54, line 24 page 65, line 4 -page 65, line 25</p> <p style="text-align: right;">-/--</p>	16, 17, 19

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"S" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 September 1999

Date of mailing of the international search report

27/09/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PC/EP 99/03476

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>page 66, line 23 -page 67, line 6 figures 3,4,17</p> <p>---</p>	
X	<p>US 4 791 069 A (HOVORKA GEORGE ET AL) 13 December 1988 (1988-12-13) column 1, line 9 -column 1, line 14 column 1, line 63 -column 2, line 23 column 2, line 64 -column 4, line 35 column 4, line 45 -column 5, line 53</p> <p>---</p>	1-5,8,15
X	<p>WO 95 35505 A (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR) 28 December 1995 (1995-12-28) page 5, line 26 -page 6, line 10 page 6, line 21 -page 7, line 17 page 7, line 22 -page 9, line 14 page 13, line 9 -page 14, line 10 page 15, line 8 -page 15, line 34 page 20, line 3 -page 22, line 11 page 30, line 15 -page 30, line 29 figures 1-6</p> <p>---</p>	16,19
A	<p>WO 97 40383 A (GLAXO GROUP LTD ;CHAN SAM (US); GAVIN ROBERT M (US); KEDAR HAIM (U) 30 October 1997 (1997-10-30) page 1, line 21 -page 3, line 9 page 3, line 23 -page 4, line 16 page 4, line 23 -page 5, line 10 page 5, line 22 -page 5, line 25 page 6, line 1 -page 6, line 8 page 9, line 1 -page 9, line 7 page 9, line 27 -page 10, line 4 page 10, line 19 -page 11, line 13 page 11, line 20 -page 12, line 10 page 12, line 15 -page 14, line 9 page 16, line 15 -page 16, line 26 page 19, line 1 -page 19, line 5 page 21, line 3 -page 21, line 30 page 23, line 6 -page 23, line 12 page 24, line 10 -page 24, line 14 figures 1-12</p> <p>---</p>	1-8,14, 16,18,19
A	<p>WO 97 15394 A (BAINS WILLIAM ARTHUR ;HOJZEGO PETER JOHN (GB); SMITHKLINE BEECHAM) 1 May 1997 (1997-05-01) page 1, line 9 -page 2, paragraph 5 page 4, paragraph 6 page 5, paragraph 4 page 7, line 1 -page 8, line 5 figures 1-3</p> <p>---</p>	1,2,7,9, 12,16,18

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/03476

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB 1 503 828 A (UNIV STRATHCLYDE) 15 March 1978 (1978-03-15) page 1, line 10 -page 1, line 30 page 1, line 74 -page 2, line 49 page 2, line 83 -page 2, line 121 page 3, line 7 -page 3, line 27 ----	1,4,5,12
A	DE 44 10 633 C (BIOTEST AG) 20 July 1995 (1995-07-20) page 2, line 34 -page 3, line 36 page 3, line 47 -page 4, line 23 page 5, line 19 -page 5, line 25 figure 4 ----	16,19
A	WO 97 49653 A (IRORI ;NOVA MICHAEL P (US); SHI SHUHAO (US); XIAO XIAO YI (US); PA) 31 December 1997 (1997-12-31) abstract; figure 7 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EI 99/03476

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9829736	A	09-07-1998	AU 6646398 A	31-07-1998
US 4791069	A	13-12-1988	US 4689310 A	25-08-1987
WO 9535505	A	28-12-1995	US 5807522 A	15-09-1998
			AT 180570 T	15-06-1999
			AU 2862995 A	15-01-1996
			CA 2192095 A	28-12-1995
			DE 69509925 D	01-07-1999
			EP 0804731 A	05-11-1997
			EP 0913485 A	06-05-1999
			JP 10503841 T	07-04-1998
WO 9740383	A	30-10-1997	AU 2767797 A	12-11-1997
			EP 0900378 A	10-03-1999
WO 9715394	A	01-05-1997	EP 0862497 A	09-09-1998
GB 1503828	A	15-03-1978	CA 1089339 A	11-11-1980
			DE 2728077 A	05-01-1978
			DK 276677 A	23-12-1977
			FR 2355912 A	20-01-1978
			JP 53020479 A	24-02-1978
DE 4410633	C	20-07-1995	NONE	
WO 9749653	A	31-12-1997	AU 3577997 A	14-01-1998
			AU 7257396 A	28-04-1997
			EP 0853497 A	22-07-1998
			WO 9712680 A	10-04-1997

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

PC 1, EP 99/03476

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 GOIN1/31 //B01J19/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 GOIN B01J B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESSENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	<p>WO 98 29736 A (GENOMETRIX INC) 9. Juli 1998 (1998-07-09)</p> <p>Seite 1, Zeile 19 -Seite 1, Zeile 22 Seite 7, Zeile 4 -Seite 7, Zeile 9 Seite 7, Zeile 20 -Seite 7, Zeile 23 Seite 10, Zeile 17 -Seite 10, Zeile 21 Seite 11, Zeile 6 -Seite 11, Zeile 16 Seite 15, Zeile 5 -Seite 15, Zeile 14 Seite 15, Zeile 21 -Seite 16, Zeile 8 Seite 17, Zeile 26 -Seite 18, Zeile 8 Seite 19, Zeile 18 -Seite 19, Zeile 26 Seite 21, Zeile 6 -Seite 21, Zeile 27 Seite 22, Zeile 12 -Seite 23, Zeile 18 Seite 25, Zeile 24 -Seite 26, Zeile 12 Seite 28, Zeile 12 -Seite 29, Zeile 23 Seite 31, Zeile 4 -Seite 31, Zeile 6 Seite 45, Zeile 9 -Seite 46, Zeile 17 Seite 54, Zeile 7 -Seite 54, Zeile 24 Seite 65, Zeile 4 -Seite 65, Zeile 25</p> <p>-/-</p>	16, 17, 19

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besondere bedeutsam anzusehen ist

"E" Altes Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,

eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

A Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. September 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27/09/1999

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
	Seite 66, Zeile 23 -Seite 67, Zeile 6 Abbildungen 3,4,17 ----	
X	US 4 791 069 A (HOVORKA GEORGE ET AL) 13. Dezember 1988 (1988-12-13) Spalte 1, Zeile 9 -Spalte 1, Zeile 14 Spalte 1, Zeile 63 -Spalte 2, Zeile 23 Spalte 2, Zeile 64 -Spalte 4, Zeile 35 Spalte 4, Zeile 45 -Spalte 5, Zeile 53 ----	1-5,8,15
X	WO 95 35505 A (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR) 28. Dezember 1995 (1995-12-28) Seite 5, Zeile 26 -Seite 6, Zeile 10 Seite 6, Zeile 21 -Seite 7, Zeile 17 Seite 7, Zeile 22 -Seite 9, Zeile 14 Seite 13, Zeile 9 -Seite 14, Zeile 10 Seite 15, Zeile 8 -Seite 15, Zeile 34 Seite 20, Zeile 3 -Seite 22, Zeile 11 Seite 30, Zeile 15 -Seite 30, Zeile 29 Abbildungen 1-6 ----	16,19
A	WO 97 40383 A (GLAXO GROUP LTD ;CHAN SAM (US); GAVIN ROBERT M (US); KEDAR HAIM (U) 30. Oktober 1997 (1997-10-30) Seite 1, Zeile 21 -Seite 3, Zeile 9 Seite 3, Zeile 23 -Seite 4, Zeile 16 Seite 4, Zeile 23 -Seite 5, Zeile 10 Seite 5, Zeile 22 -Seite 5, Zeile 25 Seite 6, Zeile 1 -Seite 6, Zeile 8 Seite 9, Zeile 1 -Seite 9, Zeile 7 Seite 9, Zeile 27 -Seite 10, Zeile 4 Seite 10, Zeile 19 -Seite 11, Zeile 13 Seite 11, Zeile 20 -Seite 12, Zeile 10 Seite 12, Zeile 15 -Seite 14, Zeile 9 Seite 16, Zeile 15 -Seite 16, Zeile 26 Seite 19, Zeile 1 -Seite 19, Zeile 5 Seite 21, Zeile 3 -Seite 21, Zeile 30 Seite 23, Zeile 6 -Seite 23, Zeile 12 Seite 24, Zeile 10 -Seite 24, Zeile 14 Abbildungen 1-12 ----	1-8,14, 16,18,19
A	WO 97 15394 A (BAINS WILLIAM ARTHUR ;HOUEGO PETER JOHN (GB); SMITHKLINE BEECHAM) 1. Mai 1997 (1997-05-01) Seite 1, Zeile 9 -Seite 2, Absatz 5 Seite 4, Absatz 6 Seite 5, Absatz 4 Seite 7, Zeile 1 -Seite 8, Zeile 5 Abbildungen 1-3 ----	1,2,7,9, 12,16,18

	-/---	

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC1/EP 99/03476

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	GB 1 503 828 A (UNIV STRATHCLYDE) 15. März 1978 (1978-03-15) Seite 1, Zeile 10 -Seite 1, Zeile 30 Seite 1, Zeile 74 -Seite 2, Zeile 49 Seite 2, Zeile 83 -Seite 2, Zeile 121 Seite 3, Zeile 7 -Seite 3, Zeile 27 -----	1,4,5,12
A	DE 44 10 633 C (BIOTEST AG) 20. Juli 1995 (1995-07-20) Seite 2, Zeile 34 -Seite 3, Zeile 36 Seite 3, Zeile 47 -Seite 4, Zeile 23 Seite 5, Zeile 19 -Seite 5, Zeile 25 Abbildung 4 -----	16,19
A	WO 97 49653 A (IRORI ;NOVA MICHAEL P (US); SHI SHUHAO (US); XIAO XIAO YI (US); PA) 31. Dezember 1997 (1997-12-31) Zusammenfassung; Abbildung 7 -----	1

INTERNATIONALER RECHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung: A, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PC./EP 99/03476

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9829736	A	09-07-1998	AU	6646398 A	31-07-1998
US 4791069	A	13-12-1988	US	4689310 A	25-08-1987
WO 9535505	A	28-12-1995	US	5807522 A	15-09-1998
			AT	180570 T	15-06-1999
			AU	2862995 A	15-01-1996
			CA	2192095 A	28-12-1995
			DE	69509925 D	01-07-1999
			EP	0804731 A	05-11-1997
			EP	0913485 A	06-05-1999
			JP	10503841 T	07-04-1998
WO 9740383	A	30-10-1997	AU	2767797 A	12-11-1997
			EP	0900378 A	10-03-1999
WO 9715394	A	01-05-1997	EP	0862497 A	09-09-1998
GB 1503828	A	15-03-1978	CA	1089339 A	11-11-1980
			DE	2728077 A	05-01-1978
			DK	276677 A	23-12-1977
			FR	2355912 A	20-01-1978
			JP	53020479 A	24-02-1978
DE 4410633	C	20-07-1995	KEINE		
WO 9749653	A	31-12-1997	AU	3577997 A	14-01-1998
			AU	7257396 A	28-04-1997
			EP	0853497 A	22-07-1998
			WO	9712680 A	10-04-1997